

**Д. П. Тамбасова, П. Н. Любякина,  
М. С. Якимова, Е. Г. Ковалева**

*Уральский федеральный университет  
им. первого Президента России Б. Н. Ельцина,  
620078, Россия, г. Екатеринбург, ул. Мира, 28,  
d.p.tambasova@urfu.ru*

## **ЭФФЕКТИВНАЯ АДСОРБЦИЯ ЛИЗОЦИМА НА ПОВЕРХНОСТИ ААО МЕМБРАН И ЕЕ ЗАВИСИМОСТЬ ОТ pH РАСТВОРА\***

**Ключевые слова:** адсорбция ферментов, анодный оксид алюминия, электронный парамагнитный резонанс.

Разработка носителей для иммобилизации ферментов в настоящее время является обширной развивающейся областью науки [1]. Широкий спектр применения находят наноканальные мембраны на основе анодного оксида алюминия благодаря относительной простоте синтеза. Экспериментальные мембраны были изготовлены в США, Роли, Университет штата Северная Каролина, посредством двухэтапного процесса анодирования, аналогичного описанному Масуда и Фукуда [2].

На адсорбцию различных материалов влияет много факторов, таких как гидрофобность и гидрофильность поверхности, наличие и количество активных центров, pH раствора, в том числе pH внутри пор ААО мембран, заряд, потенциал поверхности и др. [3]. Адсорбция белка лизоцима на различных материалах изучалась многими авторами. Лизоцим адсорбировали на мезопористых молекулярных ситах из буферных растворов с различными значениями pH [4]. Но при этом не учитывалось влияния на адсорбцию pH раствора внутри пор исследуемых образцов.

В нашем исследовании лизоцим адсорбировали на ААО мембраны с диаметром 50 нм. Раствор лизоцима концентрацией 100 мкмоль/л был приготовлен в 25 мМ буфере (pH 6,5 калий-фосфатный буфер, pH 9,6, 10,5 и 12 бикарбонат натрия буфер). В каждом эксперименте по адсорбции использовали 20 мг ААО мембран. Их замачивали в 4 г соответствующего раствора лизоцима. Мембрану в растворе лизоцима непрерывно встряхивают в шейкере со скоростью 160 встряхиваний/мин до достижения равновесия (96 ч.).

Количество адсорбированного лизоцима рассчитывали путем вычитания количества, обнаруженного в надосадочной жидкости после адсорбции, из количества лизоцима, присутствующего перед добавлением адсорбента, длина волны УФ-поглощения – 281,5 нм. В условиях контроля внутреннего pH и заряда поверхности методом ЭПР [5] было найдено, что максимальное количество адсорбированного лизоцима значительно изменяется в зависимости от pH раствора. Так же был проведен БЭТ анализ изотермы адсорбции лизоцима на поверхности мембран: при pH 6,5–10,5 соответствовали модели Ленгмюра (изотерма типа L), в то время как изотермы, зарегистрированные при pH 12, относятся к типу S. Количество адсорбированного фермента увеличивается от pH 6,5 до 12 (pH внутреннее от 5.4 до 11 по данным ЭПР).

Адсорбированное количество зависит от pH раствора внутри пор ААО мембран. С увеличением pH (pH внутреннего) увеличивается количество адсорбированного лизоцима. Максимальная адсорбция составляет 16,1 мкмоль/г при pH 12, тогда как при pH 6,5 адсорбируется только 7,2 мкмоль/г. Интересно отметить, что количество лизоцима, адсорбированного при pH 12, почти вдвое превышает количество лизоцима, адсорбированного при pH 6.

#### Список литературы

1. Kovaleva E. G., Molochnikov L. S., Venkatesan U. et al. // Journal of Physical Chemistry C. 2016. Vol. 120, № 5. P. 2703–2711.
2. Md Jani A. M., Losic D., Voelcker N. H. // Progress in Materials Science. 2013. Vol. 58, № 5. P. 636–704.
3. Shimizu K., Ishihara M. // Biotechnology and Bioengineering. 1987. Vol. 29, № 2. P. 236–241.
4. Vinu A., Murugesan V., Tangermann O. et al. // Chemistry of Materials. 2004. Vol. 16, № 16. P. 3056–3065.
5. Голубев В. Б. // Успехи химии. 1981. Т. 5. С. 792–812.

\* Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-29-12129мк.